

度的影响,结果(表 2),TBHQ的测量线性范围随 DPPH^o 浓度的增加而增大,但其测定灵敏度(以 IC₅₀表示)却随之而降低

表 2 DPPH^o 浓度对测量线性范围及灵敏度的影响

[DPPH ^o](mol/L)	线性范围(g/mL)	IC ₅₀ (g/mL)
6.5 × 10 ⁻⁵	2 × 10 ⁻⁷ ~ 3 × 10 ⁻⁶	1.7 × 10 ⁻⁶
1 × 10 ⁻⁴	3 × 10 ⁻⁷ ~ 5 × 10 ⁻⁶	2.7 × 10 ⁻⁶
2 × 10 ⁻⁴	3 × 10 ⁻⁷ ~ 1 × 10 ⁻⁵	5.4 × 10 ⁻⁶

2.4 体系显色的稳定性:实验表明,各种溶剂(乙醇 甲醇 丙酮 乙酸乙酯 氯仿 二甲亚砷)中的 DPPH^o 溶液的 A 值在 35 min 内基本不变,表明该显色体系较稳定。以乙醇 甲醇、二甲亚砷为溶剂的 DPPH^o 分析法曾有报道^[1-11],但其它溶剂中 DPPH^o 分析法未见报道。本研究表明,DPPH^o 分析法可用于多种有机溶剂提取物抗氧化性质的研究

2.5 干扰实验:以 1.7 × 10⁻⁷ g/mL TBHQ 对 DPPH^o 进行清除实验,在误差小于 5% 的情况下,相关成分影响如下:10 000 倍的 Na⁺、Cl⁻、Br⁻; 100 倍的 NO₃⁻、NO₂⁻、SO₄²⁻、Mg²⁺、蔗糖、葡萄糖; 10 倍的 Mn²⁺、I⁻; 等倍的 Zn²⁺、Fe³⁺、SO₃²⁻ 不干扰测定; 等倍量的 Fe²⁺、Cu²⁺、S₂O₃²⁻ 产生干扰。

2.6 回收实验:抗坏血酸(Vc)和茶多酚(TP)是公认的安全可靠的天然抗氧化剂。它们清除 DPPH^o 实验结果及回收率实验结果见表 3

3 应用实验

生姜为多年生草本植物,它在传统中医药学中

表 3 应用实验及回收实验结果

样品	加入量(g/mL)	DPPH 清除率(%)	TBHQ加入量(g/mL)	回收量(g/mL)	回收率(%)
Vc	8.6 × 10 ⁻⁷	10.3	3.3 × 10 ⁻⁷	11.7 × 10 ⁻⁷	93.9
TP	3.3 × 10 ⁻⁷	9.5	3.3 × 10 ⁻⁷	6.7 × 10 ⁻⁷	103.0

具有很广泛的用途。已有文献报道它具有清除活性氧自由基的作用^[2],并已将其用作食用油等的抗氧化剂^[13,14]。我们研究它对 DPPH^o 的清除作用,其 IC₅₀(清除 50% DPPH^o 所需试剂量)为 3.8 mg/mL,这表明 DPPH^o 的实验结果与其它自由基的清除实验结果是一致的。

参考文献

- Barry H, *et al.* Free radicals in Biology and Medicine. Oxford, Charendon Press, 1985 37
- 方允中,等. 自由基与酶—基础理论及其在生理学和医学中的应用. 北京: 科学出版社, 1989 11, 193
- 许士凯. 抗衰老药理学. 北京: 中国医药科技出版社, 1995 200
- Nicole C, *et al.* Free Radical Biology & Medicine, 1996, 20 (1): 35
- Blois, M S. Nature, 1958, 181: 1199
- Cheng Z J, *et al.* Biochimica et Biophysica Acta., 1998, 1392 291
- Mellors A, *et al.*, J Biol Chem, 1966, 241: 4353
- Alexandre C, *et al.* Planta Med, 1998, 64 393
- Jose A L, *et al.* J Agric Food Chem, 1998, 46 2694
- Makoto H, *et al.* J Agric Food Chem, 1998, 46 2167
- Esperanza J, *et al.* J Nat Prod, 1998, 61 706
- 田亚平,等. 自由基生命科学进展. 第 1 集. 北京: 原子能出版社, 1993 72
- 李爱华. 食品科学, 1995, 16(12): 35
- 许淑英编译. 食品科学, 1987, 9 49

(1999-05-24 收稿)

中药材中二氧化硫的含量测定

香港政府化验所(香港特别行政区) 王兆基* 关锡耀
上海市药品检验所(200233) 汪洁 陈坚行

摘要 酸蒸馏碘滴定法是测定一般食物中二氧化硫含量的一个标准检测方法。本文就此法测定中药材中二氧化硫含量的可行性和准确性作出探讨和研究。结果显示酸蒸馏碘滴定法用于中药材中二氧化硫的含量测定有很高的准确性和重现性。本文检验了 30 种香港常用中药材(共 42 个样本),发现其中有 24 个样本中含有二氧化硫,而其中 9 个样本中的二氧化硫更超出 500 μg/g

关键词 中药材 二氧化硫 酸蒸馏碘滴定法 离子色谱法

Determination of Sulphur Dioxide in Chinese Herbal Medicines by Iodine Titration Method

Hongkong Government Laboratory (HKSAR) Wang Zhaoji and Guan Xiyao

* Address Wang Zhaoji, Hongkong Government Laboratory (HKSAR)

王兆基,理学学士学位(化学及物理),香港理工大学,1991年;哲学博士学位(化学,香港中文大学),1994年;理学硕士学位(应用数学),香港理工大学,1999年。专业资格:英国皇家化学学会会员,特许化学师,1997年;化验师(香港政府化验所)。研究方向:食物化验包括农残及其他污染物分析,中药化验包括有毒中药材鉴定分析,化学计量学在中药分析的应用。科研成果:已发表文章共 14 篇。

Shanghai Institute for Drug Control Wang Jie and Chen Jianxing

Abstract Iodimetric titration is a standard method for the determination of sulphur dioxide in food samples. This paper proposed to apply this method to determine the sulphur dioxide in Chinese herbal medicines. The results indicated that the method had a high accuracy and reproducibility in the analysis of Chinese herbal medicines. In the study, 30 commonly used types of Chinese herbal medicines (totally 42 samples) were examined. 24 samples were found to contain sulphur dioxide, in which 9 of them contained sulphur dioxide at concentrations greater than $500\mu\text{g/g}$. In the study, the method was also compared with the ion-chromatographic method, and the results were very consistent.

Key words Chinese herbal medicines sulphur dioxide iodimetric titration ion chromatography

不少中药材在加工时,都会加上硫磺熏蒸作为处理程序之一,达到漂白药材及杀菌防腐的目的。由于二氧化硫是一种较强的还原剂,可能会造成中药材本身有效成分的改变,影响中药材的质量和疗效。在煎制复方汤剂过程中,虽然部分二氧化硫会被挥发掉,但残余的二氧化硫仍可与药材中的有效成分产生化学反应,从而影响药材的质量和疗效;再者,药剂中若含过量的二氧化硫残余,会引致服用者有咽喉疼痛、胃部不适等不良反应^[1]。曾有报道指出,药剂中若含二氧化硫超过 $500\mu\text{g/g}$,会产生令人不适的味觉^[2]。鉴于目前国内外均未见文献报道中药材中二氧化硫的含量测定,笔者特此对有关检测方法进行探讨,并对香港常用的中药材进行二氧化硫含量的检测。本文中中药材的二氧化硫测定主要用酸蒸馏碘滴定法,同时亦采用离子色谱法进行检测方法比较。

1 仪器、样品与试剂

离子色谱法: Lachat Model LP-21泵, Waters 431 电导检测器, Varian 4270 积分仪, Dionex IonPac AG12A 200 mm \times 4 mm 离子交换色谱柱, 流动相为 4.2 mmol/L 碳酸钠和 1.6 mmol/L 碳酸氢钠 (1:1), 流速为 1.5 mL/min, 进样量为 $10\mu\text{L}$ 。中药材样本购自香港中药材商店。盐酸、碳酸钠、碳酸氢钠、硫酸钠、双氧水和氢氧化钠为分析纯, 水为重蒸馏水。亚硫酸钠对照品 (99.5% 以上) 由英国 Koch-Light Lab. 公司提供。

2 酸蒸馏碘滴定法

2.1 样品的含量测定: 精密称取约 20 g 粉碎均匀的中药材, 置于两颈 1 000 mL 圆底烧瓶中, 加水 500 mL 和 10 mL 6 mol/L 盐酸溶液, 一颈导入氮气至瓶底, 另一连接回流冷凝管, 冷凝管上端连接一导气管导入一烧杯底部, 烧杯内加入水和数滴淀粉溶液, 滴加 0.01 mol/L 碘标准溶液使成蓝色, 加热烧瓶至溶液沸腾。二氧化硫在中药材中多以亚硫酸、亚硫酸钠或亚硫酸钾形式存在, 这些化学物与盐酸反

应生成二氧化硫, 经蒸馏与烧杯内的碘起还原作用, 随着溶液中碘浓度的减少, 溶液有褪色现象, 后滴加 0.01 mol/L 碘标准溶液补充耗用掉的碘, 使溶液回复成蓝色, 如此反复至烧杯内溶液于 1 min 内不褪色。二氧化硫浓度可直接由所耗用的碘液量来计算, 结果见表 1。若以样本量 20 g 来计算, 此方法的检测限为 $10\mu\text{g/g}$ 。

表 1 样本中二氧化硫含量测定结果

二氧化硫含量	样本数量	含量范围 ($\mu\text{g/g}$)
$500\mu\text{g/g}$ 以下	16	25~ 480
$500\mu\text{g/g}$ 以上	8	530~ 2 150

2.2 加样回收率试验: 精密称取不同份量亚硫酸钠, 加在已知不含二氧化硫的药材样本中, 按样品含量测定方法测定, 计算回收率, 结果见表 2。

表 2 酸蒸馏碘滴定法加样回收测试结果

药材	样本数 (n)	加样水平 (mg)	回收率 (%)
山药	1	5	85.1
菊花	1	15	88.5
百合	1	10	85.6
人参	3	12~ 14	88.6~ 92.9
蜜枣	2	12~ 15	87.4~ 87.8
平均回收率 (%)	88.3	RSD (%)	2.9

3 不同检测方法的比较

3.1 方法比较: 本文尝试采用离子色谱法与碘滴定法作一比较。样本处理和蒸馏仪器装置部分跟上述方法相同, 但连接导气管的烧杯内则改为浓度为 3% 的双氧水, 其作用在于把蒸馏过来的二氧化硫吸收而转化为硫酸根离子。蒸馏时间为 1 h, 将吸收液转移至 100 mL 容量瓶中, 加水至刻度, 摇匀。精密吸取 2 mL 至烧杯中, 加 0.01 mol/L 氢氧化钠 0.5 mL, 摇匀, 置于蒸气浴上加热挥掉残余的双氧水, 冷至室温, 用水溶解残留物至 25 mL 容量瓶中, 加水至刻度, 摇匀。将样品溶液注入色谱仪, 用外标法计算含量。

3.2 标准曲线的制备: 精密称取适量亚硫酸钠, 用水制备成浓度为 $1\ 000\mu\text{g/mL}$ 的标准贮备溶液。精密吸取标准贮备溶液适量, 用水稀释成浓度分别为

5, 10, 20, 25 μ g/mL标准溶液 将标准溶液注入色谱仪,以峰面积为纵坐标,浓度为横坐标进行线性回归,获得线性方程为 $Y = 9\ 953 + 25\ 036X$ ($r = 0.9999$)

3.2 样品的含量测定:选取 3个已知含二氧化硫的药材样本,分别用酸蒸馏碘滴定法及酸蒸馏离子色谱法测定样本中二氧化硫含量,结果见表 3

表 3 碘滴定法与离子色谱法测定结果比较 (mg/g)

药材	碘滴定法	离子色谱法
沙参	2.45	2.39
无花果	1.57	1.48
冬瓜条	2.64	2.74

4 讨论

二氧化硫是食物中常用的防腐剂,主要用于饮料和干果等类食物,作用在于保持食物的色泽和防止霉变^[3]。在检测方面,酸蒸馏是常用的提取方法^[4],而结果显示,碘滴定法和离子色谱法对提取液中二氧化硫含量测定没有显著差别。但值得注意的是,在离子色谱法中,当进行移除溶液中残留双氧水的时候,溶液必须呈阴性,否则会造成硫酸变成三氧化硫而挥发掉,导致定量结果的误差。

在西药中,二氧化硫也是容许使用的,其使用范围为 0.01% ~ 1.0%^[5]。结果显示,42个中药材样品中未发现有二氧化硫含量超出这过范围,但当中有 9个样本含二氧化硫超过 500 μ g/g,其中包括一些直接泡茶饮用的药材如人参、参须、菊花等。

显然,按总体水平来看,中药材中二氧化硫的含量并不算太高,但由于它可能会对人体健康或中药材的质量和疗效造成影响,所以有必要监管二氧化硫在中药材中的使用。经实验证明,酸蒸馏碘滴定法应用于测定中药材中二氧化硫的含量,有很高的准确性和重现性,而且此法有简单和快捷等优点,可以考虑作为监察中药材中二氧化硫含量的标准测定方法

参考文献

- 1 Branen A F, et al. Antimicrobials in Foods. Marcel Dekker Inc, 1985 191
- 2 Furia T E. Handbook of Food Additive. CRC Press, 1972 163
- 3 刘程,等.食品添加剂实用大全.北京:北京工业大学出版社, 1993 15
- 4 Manuals of Food Quality Control. Vol. 2, FAO, 1979. 7
- 5 Martindale, The Extra Pharmacopoeia. The Pharmaceutical press, 1993 1139

(1999-05-24收稿)

西洋参 DNA导入大豆实现遗传转化的研究 II. 导入后代异黄酮类成分的含量测定

湖南中医学院中药系 (长沙 410007)

湖南农业大学植物科技学院

日本名城大学生药学教研室

日本岐阜药科大学药草园研究室

刘塔斯*

麻浩 田森林

川村智子

田中俊弘

摘要 用高效液相色谱法测定了西洋参 DNA导入大豆后代的异黄酮类成分:大豆苷 (daidzin)、大豆黄素 (daidzein)、染料木苷 (genistin)、染料木素 (genistein)的含量,采用 Unisil Q C₁₈柱,4.6 mm \times 250 mm,流动相乙腈-0.003 mol/L磷酸氢二钠 (17:83),流速 1.0 mL/min,检测波长 254 nm,结果表明,4种成分分离效果好,成分含量发生了广泛变异,从中可筛选出有效成分含量较高的新材料。

关键词 西洋参 DNA导入大豆后代 大豆苷 大豆黄素 染料木苷 染料木素 HPLC法

Genetic Transformation of Soybeans by Soaking Its Seeds with the Total DNA of American Ginseng (*Panax quinquefolium*) II. Determination of Isoflavone Content by HPLC

Department of Chinese Materia Medica, Hunan College of Traditional Chinese Medicine (Changsha 410007) Liu Tasi

College of Plant Science and Technology, Hunan Agriculture University Ma Hao and Tian Senlin

Department of Pharmacognosy, Meijo University, Meijo, Japan Tomoko Kawamura

Gifu Pharmaceutical University, Japan Toshihiro Tanaka

Abstract A method for the determination of isoflavone content in the transformed progenies of soybean by HPLC was reported. Using unisil Q C₁₈ column (4.6 mm \times 250 mm, 5 μ m), with a mobile

* Address Liu Tasi, Department of Chinese Materia Medica, Hunan College of Traditional Chinese Medicine, Changsha